

Horse and donkey milk production differs greatly from that of conventional dairy species, especially in terms of milk supply. The equid mammary gland has a low average capacity (max. 2.5 L in heavy-horse breeds) so that milking may be carried out 2 or 3 h after separation from the foal. Kinetics of milk ejection shows 2 peaks: the first represents the emission of the cisternal milk, while the second represents the emission of alveolar milk (75 - 85%) as natural response to oxytocin release during milking, which is often insufficient for complete milk removal from the udder of dairy equids.

For a maximum response of milk ejection in heavy-horse breeds the presence of the foal during milking is recommended. However, when foals are not physically present, the milking routine is more manageable in terms of both human and animal safety, and for optimal milk extraction, according to previous experience with donkeys. In addition, other optimised parameters of the mechanical equipment for horse milking also apply to donkey (42 - 45 kPa of vacuum level).

According to the lactation curve in heavy-horse breeds gradually declines from approximately 13 kg a day to 5 kg a day, and the peak is reported to be within the 3rd month of lactation but more frequently it is considered to occur at the 2nd month of lactation. It is also estimated that light horses, such as the Murgese breed (average 480 kg body weight), produce approximately 14.0 kg milk per day, while for heavy horses, such as the Tiro Pesante Rapido (average 880 kg body weight), the daily yield is 22 kg milk at the peak of lactation. However, in light-horse breeds, such as Haflinger, dams in good body condition and machine milked twice a day produced 0.9 ± 0.25 L milk per milking during mid-late lactation.

The average milk yield per mechanical milking in non-pregnant Martina Franca donkeys (average body weight 280 kg) shows an initial decline from d30 to the 4th month of lactation with an estimated persistency of 85 - 90% per month. Subsequently, milk production stabilizes at 600 - 800 ml until the 9th month of lactation. This trend is confirmed by data on Ragusana population that show seasonal variation of milk yield, presumably due to foaling period.

Jennets also, as well as mares, hold milk for foals on the first milking and send him to the subsequent milkings. Ratio of daily milk from the first milking to the second and third at mares 55,8 % and 55 %. Ratio of daily milk from the first milking to the second and third at jennets 62 % and 56 %. The time of weaning for the level of the first milk yield had no influence. The coefficient of variability is greater in mares than in donkeys.

Jennets, are accustomed to give milk in the milking hall without foals due to their calm nature.

The technology of keeping jennets and obtaining milk from them on the "La Valledegli Asini" dairy farm is similar to horse breeding technology, excluding the individual properties of animals, such as the gestation and the estrus.

Key words: technology, donkeys, mares, milking, udders.

Надійшла 14.11.2017 р.

УДК 577.152.–161.532:591.1/3

ЯКОВІЙЧУК О.В., здобувач

РУБАН Г.В., здобувач

ДАНЧЕНКО О.О., д-р с.-г. наук

Мелітопольський державний педагогічний університет імені Богдана Хмельницького
alex.yakov1991@gmail.com

ВПЛИВ ВІКАСОЛУ НА АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ ЦИКЛУ КРЕБСА І АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ТА СТАН ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ У М'ЯЗАХ ГУСЕЙ

Вивчали вплив водорозчинного похідного вітаміну К₃ (вікасолу) на активність дегідрогеназ циклу Кребса і стан системи антиоксидантного захисту в м'язовій тканині гусей. Встановлено, що під впливом вікасолу в скелетних м'язах гусенят спостерігається помірна активізація системи антиоксидантного захисту, переважно, за рахунок глутатіонпероксидази і, меншою мірою, супероксиддисмутази. Водночас, дещо знизилася і стабілізувалася активність дегідрогеназ циклу Кребса (α -OGD і SD). Однак, за показниками зростання гусенят дослідної групи достовірно перевищували відповідні показники контрольної. Такий позитивний ефект, ймовірно, обумовлений специфікою впливу вікасолу на редокс систему гусей, який полягає в реалізації механізмів, спрямованих на збільшення ефективності її функціонування шляхом підвищення збалансованості окремих її компонентів, що підтверджується результатами проведеного кореляційного і кластерного аналізу.

Ключові слова: редокс система, вікасол, дегідрогенази, антиоксидантні ферменти, продукти ліпопероксидації, антиоксидантна активність, баланс.

Постановка проблеми. Вітамін К є родиною похідних 1,4-нафтохінонів, що зазвичай розглядають як антигеморагічний засіб [14]. Однак похідні хінонів мають широкий спектр біологічної активності і використовуються як терапевтичні, протипаразитарні препарати та як стимулятори росту кишкової мікрофлори [11, 21, 22]. Рівень впливу цих речовин залежить від структури бічного ланцюга, який зумовлює полярність похідних і визначає особливості їхнього зв'язку з елементами дихального ланцюга та циклу Кребса [21]. Так, вітамін К₃ (менадіон) зда-

тний помірно підсилювати транспорт електронів [21, 22], що пов'язано з його високою полярністю порівняно з іншими ендogenous хінонами [17]. З іншого боку, менадіон може виступати як прооксидант та генерувати активні форми кисню (АФО) [16], і тим самим активізувати роботу системи антиоксидантного захисту (АОЗ) і компонентів дихального ланцюга [17, 21].

Аналіз останніх досліджень. Раніше оприлюднені результати досліджень, в яких з'ясовано вплив різних форм менадіону на процеси амінокислотного обміну, збереженості жиророзчинних вітамінів у тканинах, гематокриту крові та ліпідного обміну в курчат-бройлерів за додавання його до сухого корму [1, 4, 9]. Однак, вплив менадіону на перебіг окисно-відновних процесів у тканинах птиці не розглядався.

Індустріальне птахівництво, де використовують кроси високопродуктивної птиці, не може бути ефективним без науково обґрунтованого застосування вітамінно-мінеральних домішок, і вітамін К є обов'язковою складовою. За використання цих домішок важливе значення має технологія згодовування кормів. У разі використання готових комбікормів, зазвичай, перевагу надають водорозчинним формам вітамінів.

Тому **метою** роботи було з'ясування впливу водорозчинного похідного вітаміну К₃ (вікасолу) на активність дегідрогеназ циклу Кребса та стан системи антиоксидантного захисту в поштовгованих м'язах гусей.

Матеріал та методи досліджень. Як модельний об'єкт використовували гусей породи Леггард Великий (Білий). В 1-добовому віці було сформовано 2 групи (контрольна та дослідна) по 25 голів у кожній. Гусенят дослідної групи з 3-ї доби випоювали водним розчином гідрофільної форми вітаміну К₃ з концентрацією 10 мг/л, щоденно із розрахунку 0,7 мг/кг маси тіла. Збір біологічного матеріалу проводили на 7-, 14-, 21-, 28- і 35-ту добу. Біохімічні показники визначали у м'язовій тканині нижніх кінцівок. Зібраний біологічний матеріал попередньо промивали у фізіологічному розчині та гомогенізували в 50 мМ фосфатному буфері (pH = 7,4).

Рівень активності дегідрогеназ циклу Кребса визначали за ступенем відновлення Калію гексоціаноферату (III) з використанням інкубаційних середовищ, описаних у наступних джерелах: сукцинатдегідрогенази (SD) (КФ 1.3.5.1) [3], α -кетоглутаратдегідрогенази (2-OGD) (КФ 1.2.4.2) [15], активність ферментів антиоксидантного захисту – за відомими методиками: супероксиддисмутази (SOD) (КФ 1.15.1.1) [8], каталази (CAT) (КФ 1.11.1.6) [5], глутатіонпероксидази (GPO) (КФ 1.11.1.9) [2]. Вміст білка для перерахунку активності ензимів визначали за методом [13].

Інтенсивність перебігу процесів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) оцінювали за вмістом проміжних (гідропероксидів ліпідів, GPL) [6] і кінцевих продуктів (ТВААР) у гомогенаті тканини та за ініціації ПОЛ Fe^{2+} (ТВААРі) [7]. Окрім того, як інтегральний показник стану системи АОЗ використовували коефіцієнт антиоксидантної активності ($K_{\text{АОА}}$), що визначали як відношення вмісту ТВААР до ТВААРі.

Кореляційний аналіз отриманих результатів проводили з використанням відомих комп'ютерних програм, статистичну обробку – із застосуванням пакету програм Microsoft Office Excel 2013 та SPSS v.13 з t-критерієм Ст'юдента.

Основні результати дослідження. Застосування розчину вікасолу сприяло достовірному зниженню активності α -оксоглутаратдегідрогенази (α -OGD) на 25,5 % ($p \leq 0,05$) тільки наприкінці досліду в 35-добових гусенят (табл. 1), що, можливо, зумовлено зниженням вмісту α -оксоглутарової кислоти внаслідок нейтралізації вільних радикалів [11] або інактивації цими радикалами ензиму шляхом окиснення компонентів E1-E3 субодиниць [23, 24].

Середній рівень активності α -OGD в гусенят дослідної групи на 14,3 % нижчий за відповідний показник контрольної групи. Застосування похідного вітаміну К₃ сприяло його стабілізації: коефіцієнт варіації активності α -OGD в гусенят дослідної групи на 12,0 % менший за контроль.

Впродовж досліду в гусенят контрольної групи активність SD монотонно зростала ($r=0,927$). Активізація цього ензиму, певною мірою, зумовлена тим, що він входить до складу другого комплексу ланцюга переносу електронів [19]. Для дослідної групи цей показник характеризувався подібною динамікою ($r=0,929$). За середнім значенням активність SD у скелетних м'язах гусенят дослідної групи на 11,4 % поступалася відповідному показнику контрольної групи, а за коефіцієнтом варіації – на 6,0 %. Отже, під впливом вікасолу в скелетних м'язах гусенят стабілізується і дещо послаблюється активність досліджених дегідрогеназ ЦТК.

Таблиця 1 – Активність ензимів і вміст продуктів ліпопероксидації в скелетних м'язах гусей ($M \pm m$, $n=5$)

Показник	Од. вим.	Група	Вік, діб				
			7	14	21	28	35
2-OGD	нМоль/хв×мг	1	1,38±0,09	2,19±0,1	2,14±0,08	1,61±0,07	3,22±0,07
		2	1,57±0,07	1,91±0,07	1,90±0,09	1,42±0,01	2,40±0,05*
SD	нМоль/хв×мг	1	8,64±0,46	7,42±0,51	13,00±0,88	14,67±0,88	22,24±1,58
		2	6,84±0,49*	10,56±0,79*	9,25±0,6*	13,66±0,92	18,34±0,92*
CAT	мкМоль/хв×мг	1	20,99±0,84	12,18±0,92	18,03±1,15	26,69±1,39	13,55±0,69
		2	15,02±0,69*	8,86±0,64*	21,08±1,4	15,51±0,67*	23,89±0,42*
SOD	мкМоль/хв×мг	1	2,86±0,22	1,48±0,1	2,67±0,12	3,54±0,11	3,04±0,08
		2	2,45±0,07	2,23±0,1*	2,77±0,16	2,98±0,11*	3,38±0,11
GPO	мкМоль/хв×мг	1	1,47±0,17	2,20±0,19	4,64±0,15	7,66±0,3	6,08±0,25
		2	2,28±0,13*	5,27±0,13*	7,31±0,57*	6,64±0,47	8,09±0,13*
GPL	ΔD480/г	1	13,59±0,7	12,27±0,19	16,03±1,39	9,21±0,68	9,61±0,18
		2	16,02±0,81	14,72±0,9*	13,11±0,72	7,31±1,43	8,35±0,32
ТВААР	нМоль/г	1	32,76±3,0	16,9±0,8	10,5±1,0	43±1,0	11,6±1,0
		2	62,8±2,9*	33±1,4*	34,2±1,4*	41,4±1,3	6,5±0,7*
ТВААРі	нМоль/г	1	192,9±12,6	99,2±12,0	40±0,3	234,2±17	41,9±0,3
		2	362±2,8*	105,5±1,7	200,7±10,0*	169,3±2,0*	25±2,5*
K _{АОА}	-	1	0,17±0,01	0,17±0,03	0,26±0,01	0,18±0,03	0,28±0,022
		2	0,17±0,01	0,31±0,01*	0,17±0,03*	0,24±0,011*	0,27±0,023

Примітка: * - різниця вірогідна порівняно із контрольною групою ($p \leq 0,05$).

Реакція антиоксидантних ферментів на застосування препарату мала достатньо специфічний прояв. Так, середній рівень SOD-активності у м'язах гусенят за дії вікасолу вірогідно не змінився, водночас встановлено стабілізацію цього показника в гусенят дослідної групи: коефіцієнт варіації SOD-активності в їхніх м'язах зменшився на 10,0 %. Під впливом похідного вітаміну K₃ динаміка активності SOD у часі набула зростаючого прояву ($r=0,917$ ($p \leq 0,05$)) у дослідній групі, в той час як для контрольної групи $r=0,501$).

Для CAT-активності, навпаки, на тлі близького значення коефіцієнта варіації в контрольній і дослідній групах, в гусенят дослідної групи встановлено помірне зниження її середнього рівня (на 7,7 %).

Найбільш чутливою до впливу вікасолу виявилась GPO-активність, середній рівень якої у дослідній групі гусенят підвищився на 34,1 %, а коефіцієнт варіації зменшився на 18,0 %. При цьому прояв динаміки цього показника в дослідній групі залишився подібним до контрольної ($r=0,895$ ($p \leq 0,05$)) і 0,900 ($p \leq 0,05$) з часом відповідно).

Застосування вікасолу сприяло помірній стабілізації рівня проміжних продуктів ліпопероксидації GPL (коефіцієнт варіації на 8,0 % нижчий у дослідній групі) та монотонному зменшенню їхнього вмісту впродовж досліді ($r=-0,928$, $p \leq 0,05$), чого не спостерігалось в м'язах гусенят контрольної групи.

Середнє значення для вмісту ТБК-активних продуктів, як у вихідному гомогенаті, так і після індукції ПОЛ іонами Fe²⁺, під впливом вікасолу збільшилось на 54 і 41,9 % відповідно. Окрім того, під впливом похідного вітаміну K₃ вміст ТВААР у м'язах гусенят дослідної групи дещо стабілізувався і набув згасаючого прояву в часі ($r=-0,816$, $p \leq 0,05$). У цілому, якщо порівняти середній рівень коефіцієнта антиоксидантної активності гусенят контрольної і дослідної груп, то в дослідній цей показник на 9,4 % вищий. Аналізуючи загальну динаміку K_{АОА} можна припустити, що його зростання у контрольній групі зумовлено активацією антиоксидантних ензимів, переважно GPO, яка є одним з основних протекторів клітини [18], та меншою мірою SOD, що може вказувати на низьку генерацію саме супероксидрадикалів та високу швидкість перетворення його ензимом для уникнення синтезу більш токсичних форм Нітроген оксиду [20].

Для візуалізації зміни зв'язків між дослідженими показниками під впливом вікасолу, було залучено кореляційний аналіз, на основі якого скомпільовано два кластери (рис. 1).

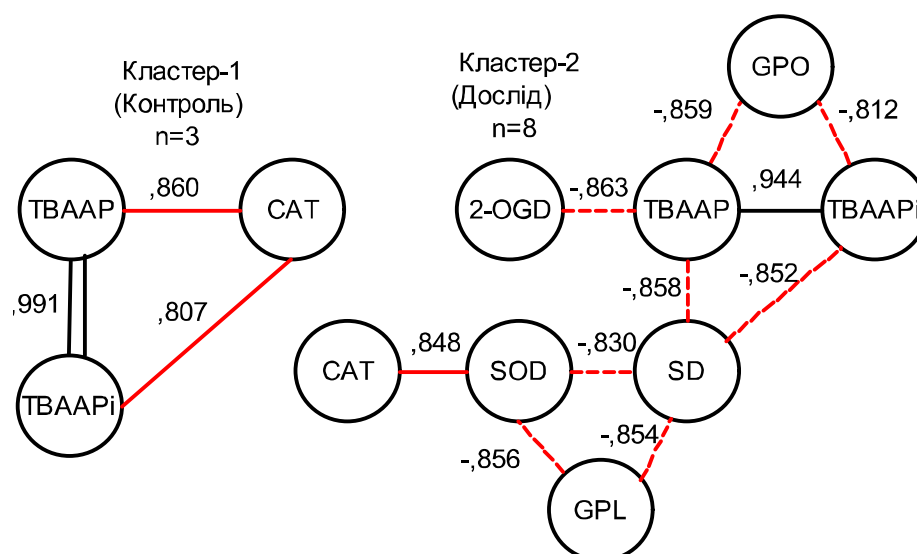


Рис. 1. Кластери показників енергетичного обміну, пероксидного окиснення і вмісту вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів у посмугованих скелетних м'язах гусей: прямі кореляції зображені суцільними лініями ($r > 0$), обернені – пунктирними ($r < 0$); подвійними чорними лініями – рівень значущості кореляції $p \leq 0,01$; одинарна чорна – $p \leq 0,05$; одинарна червона – $p \leq 0,1$.

До кластеру контрольної групи увійшли лише три показники, які мають по два достовірних кореляційних зв'язки, найвищий рейтинг серед яких належить ТВААР. Кластер-2 (дослідної групи) має більш складну структуру. Найвищий рейтинг серед показників також має вміст вторинних продуктів окиснення ліпідів із 4-ма достовірними зв'язками (ТВААР). ТВААР забезпечує внутрішню інтеграцію шляхом зв'язку із ТВААРі (0,944; $p \leq 0,05$), зв'язок із системою антиоксидантного захисту за рахунок кореляції з GPO-активністю (-0,859; $p \leq 0,1$), а інтеграція із системою енергозабезпечення шляхом оберненого зв'язку з 2-OGD і SD (-0,863; $p \leq 0,1$ і -0,858; $p \leq 0,1$). SD з 4-ма достовірними зв'язками посідає друге місце, і забезпечує зв'язок ЦТК із системою антиоксидантного захисту через SOD та вмістом GPL (-0,830; $p \leq 0,1$ і -0,854; $p \leq 0,1$).

На думку провідних біохіміків ефективність функціонування redox системи будь-якого організму визначається не рівнем активності окремих її компонентів, а узгодженістю їхнього функціонування [10]. Результати проведеного кореляційного і кластерного аналізу свідчать, що під впливом вікасолу окрім різноспрямованих змін активності досліджених оксидоредуктаз між дослідженими компонентами біологічного і пероксидного окиснення формується узгодженість їхнього функціонування. Отже, головний механізм впливу вікасолу спрямований не на активізацію окремих компонентів redox комплексу, а на перетворення його в єдину, більш ефективну збалансовану систему.

За середнім показником маси і середньодобового приросту тварини дослідної групи достовірно перевищували контрольну групу, хоча й поступались за інтенсивністю росту на заключному етапі дослідження (табл. 2).

Таблиця 2 – Показники росту тварин контрольної та дослідної груп: М – середня маса, ΔM – середньодобовий приріст маси, $\Delta M\%$ – інтенсивність росту ($M \pm m$, $n=5$)

Вік, діб	Контроль			Дослід		
	М	ΔM	$\Delta M\%$	М	ΔM	$\Delta M\%$
0	88,2 \pm 2,3	-	-	88,2 \pm 2,3	-	-
7	195,3 \pm 8,0	15,3	7,8	217,3 \pm 16,5	18,4	8,5
14	486,0 \pm 34,0	41,5	8,5	540,3 \pm 14,2	46,1	8,5
21	964,3 \pm 34,3	68,3	7,1	1166,7 \pm 13,8*	89,5	7,7
28	1237,7 \pm 44,3	39,1	3,2	1490,7 \pm 26,2*	46,3	3,1
35	1713,0 \pm 25,5	67,9	4,0	1850,3 \pm 40,8*	51,4	2,8

Примітка: *- різниця вірогідна порівняно із контрольною групою ($p \leq 0,05$).

Висновки. Таким чином, за дії вікасолу в скелетних м'язах гусенят відбулась помірна активація системи антиоксидантного захисту, переважно за рахунок ГПО і, меншою мірою, СОД. Водночас дещо послабилась і стабілізувалась активність дегідрогеназ ЦТК (α -OGD і SD). Втім, за показниками росту гусенята дослідної групи достовірно перевищували відповідні показники контрольної групи.

Такий позитивний ефект, ймовірно, пов'язаний із специфічністю впливу вікасолу на redox систему гусей, який полягає в реалізації механізмів, спрямованих на збільшення ефективності її функціонування шляхом підвищення збалансованості окремих її компонентів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бирюкова Д. Ю. Влияние биостимулирующей кормовой добавки и викасола Z-нафтолового на метаболизм и продуктивность у цыплят-бройлеров: дис. канд. биол. наук: 03.00.13, 06.02 / Бирюкова Диана Юрьевна. – Новосибирск, 2000. – 150 с.
2. Гаврилова А. Р. Определение активности глутатионпероксидазы эритроцитов / А. Р. Гаврилова, Н. В. Хмара // Лаб. Дело. – 1986. – № 12. – С. 721–724.
3. Ещенко Н.Д. Определение количества янтарной кислоты и активности сукцинатдегидрогеназы / Н.Д. Ещенко, Г. Г. Вольский // Методы биохимических исследований. – Л.: Изд-во Ленинградского университета, 1982. – С. 207–210.
4. Иванова О. В. Влияние викасола и пробиотиков на продуктивность цыплят-бройлеров: дис. канд. с.-х. наук: 06.02.02 / Иванова О. В. – Новосибирск, 2003. – 112 с.
5. Метод определения активности каталазы / [М. А. Корольук, М. И. Иванова, И. Т. Майорова, В. Е. Токарев] // Лаб. Дело. – 1988. – № 1. – 18 с.
6. Определение гидроперекисей липидов в биологических объектах (ИЭиКВМ, 2009) // Критерии и методы контроля метаболизма в организме животных и птиц. – Харьков: Институт животноводства НААН, 2011. – 225 с.
7. Определение малонового диальдегида в тканях и органах // Критерии и методы контроля метаболизма в организме животных и птиц. – Харьков: Институт животноводства НААН, 2011. – С. 224–225.
8. Пат. 2144674 Российская Федерация, G01N33/52, G01N33/68. Способ определения антиоксидантной активности супероксидсмутазы и химических соединений / Сирота Т. В.; заявитель и патентообладатель Сирота Татьяна Валерияновна. – № 99103192/14; заявл. 24.02.1999; 20.01.2000. – 3 ф-лы, 2 табл., 7 ил.
9. Сапарова Е. И. Эффективность использования различных дозировок викасола никотинамидной формы в рационе цыплят-бройлеров: дис. канд. с.-х. наук: 06.02.02 / Сапарова Е. И. – Кемерово, 1999. – 112 с.
10. Скулачев В. П. Энергетика биологических мембран / В. П. Скулачев. – Москва: Наука, 1989. – 564 с.
11. 2- and 3-substituted 1,4-naphthoquinone derivatives as subversive substrates of trypanothionereductase and lipoamide dehydrogenase from Trypanosomacruzi: synthesis and correlation between redox cycling activities and in vitro cytotoxicity / [L. Salmon-Chemin, E. Buisine, V. Yardley et al.]. // J Med Chem. – 2001. – №44. – Pp. 548–565.
12. Alpha-ketoglutarate dehydrogenase and glutamate dehydrogenase work in tandem to modulate the antioxidant alpha-ketoglutarate during oxidative stress in Pseudomonas fluorescens / [R. J. Mailloux, R. Singh, G. Brewer et al.]. // J Bacteriol. – 2009. – vol. 191. – Pp. 3804–3810.
13. Bradford M. M. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding / M.M. Bradford // Anal. Biochem. – 1976. – №72. – P. 248–254.
14. Growth performance parameters, bone calcification and immune response of in ovo injection of 25-hydroxycholecalciferol and vitamin K3 in male ross 308 broilers / T. Abbasi, M. Shakeri, M. Zaghari, H. Kohram // Theriogenology. International journal of animal reproduction. – 2017. – P. 260–265. – DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.12.016>.
15. Gupta S. C. Evidence for the Identity and Some Comparative Properties of α -Ketoglutarate and 2-Keto-4-hydroxyglutarate Dehydrogenase / S. C. Gupta, C.G. Subhash, E. E. Dekker // The J. Biol. Chem. – 1980. – vol. 255, №3, Issue 10. – P. 1107–1112.
16. Jarabak R. Effect of ascorbate on the DT-diaphorase-mediated redox cycling of 2-methyl-1,4-naphthoquinone / R. Jarabak, J. Jarabak // Arch BiochemBiophys. – 1995. – №318. – P. 418–423.
17. Kolesova G. M. A study of the mechanism of cyanide resistant oxidation of succinate from rat liver mitochondria in the presence of menadione / G. M. Kolesova, S. A. Vishnivetskiĭ, L. S. Iaguzhinskiĭ // Biokhimiia. – 1989. – №54. – P. 103–111.
18. Mills G. C. Hemoglobin catabolism. I. Glutathione peroxidase, an erythrocyte enzyme which protects hemoglobin from oxidative breakdown / G. C. Mills. // J Biol Chem. – 1957. – №229(1). – P. 189–197.
19. Mitochondrial complex II can generate reactive oxygen species at high rates in both the forward and reverse reactions / [C. L. Quinlan, A. L. Orr, I. V. Perevoshchikova etc.]. // J BiolChem. – 2012. – № 287 (32). – P. 27255–27264.
20. Phenotypes of Mice Lacking Extracellular Superoxide Dismutase and Copper- and Zinc-containing Superoxide Dismutase / [M. Sentman, M. Granström, H. Jakobson et al.]. // J BiolChem. – 2006. – №281. – P. 6904–6909.
21. Quinone analogues regulate mitochondrial substrate competitive oxidation / J. Brière, D. Schlemmer, D. Chretien, P. Rustin // Biochem Biophys Res Commun. – 2004. – №316. – P. 1138–1142.
22. Role of 2-amino-3-carboxy-1,4-naphthoquinone, a strong growth stimulator for bifidobacteria, as an electron transfer mediator for NAD(P)(+) regeneration in Bifidobacteriumlongum / [S. Yamazaki, K. Kano, T. Ikeda etc.]. // Biochim Biophys Acta. – 1999. – №1428. – P. 241–250.

23. Selective inactivation of redox-sensitive mitochondrial enzymes during cardiac reperfusion / H.A. Sadek, K. M. Humphries, P. A. Szweda, L. I. Szweda // Arch. Biochem. Biophys. – 2002. – vol. 406. – P. 222–228.
24. Tretter L. Alpha-ketoglutarate dehydrogenase: a target and generator of oxidative stress / L. Tretter, V. Adam-Vizi // Philosophical Transactions of the Royal Society B. – 2005. – vol. 360. – P. 2335–2345.
25. Youn H. Enhanced sensitivity of *Streptomyces seoulensis* to menadione by superfluous lipoamide dehydrogenase / H. Youn, S. O. Kang // FEBS Lett. – 2000. – №472. – P. 57–61.

REFERENCES

1. Birjukova, D. Ju. (2000). Vlyaniye byostymulyruyushhej kormovoj dobavky u vykasola Z-naftolovogona metabolism iproduktivnost' u cypljat-brojlerov: [Influence of biostimulating fodder additive and vicasol Z-naphthol on metabolism and productivity in broiler chickens] dis. kand. biol. nauk: 03.00.13, 06.02 / Birjukova Diana Jur'evna, Novosibirsk, 150 p.
2. Gavrilova, A. R., Hmara, N. V. (1986). Opredelenie aktivnosti glutationperoksidazy jericitocitov [Determination of the activity of glutathione peroxidase of erythrocytes], Lab. Delo, № 12, pp. 721–724.
3. Eshhenko, N. D., Vol'skij, G. G. (1982). Opredelenie kolichestva jantarnoj kisloty i aktivnosti suksinatdegidrogenazy [Determination of the amount of succinic acid and the activity of succinate dehydrogenase], Metody biohimicheskikh issledovanij. L., Izd-vo Leningradskogo universiteta, pp. 207–210.
4. Ivanova, O. V. (2003). Vlijanie vicasola i probiotikov na produktivnost' cypljat-brojlerov [Effect of vicasol and probiotics on the productivity of broiler chickens]: dis. kand. s.-h. nauk, Novosibirsk, 112 p.
5. Koroljuk, M.A., Ivanova, M.I., Majorova, I.T., Tokarev, V.E. (1988). Metod opredelenija aktivnosti katalazy [Method for determination of catalase activity]. Lab. Delo, № 1, 18 p.
6. Opredelenie gidroperekisej lipidov v biologicheskikh ob'ektah (IJeIKVM, 2009). Kriterii i metodykontrolja metabolizma v organizme zhivotnyh i ptic [Determination of lipid hydroperoxides in biological objects. Criteria and methods for controlling metabolism in animals and birds]. Har'kov, Institutzhivotnovodstva NAAN, 2011, 225 p.
7. Opredelenie malonovogo dial'degida v tkanjahirganah. Kriterii metodykontrolja metabolizma v organizme zhivotnyhiptic [Determination of malonic dialdehyde in tissues and organs. Criteria and methods for controlling metabolism in animals and birds]. Har'kov, Institutzhivotnovodstva NAAN, 2011, pp. 224–225.
8. Sirota, T. V. (2000). Sposob opredelenija antioksidantnoj aktivnosti superoksidismutazy i himicheskikh soedinenij [A method for determining the antioxidant activity of superoxide dismutase and chemical compounds]. Patent RF, no 2144674.
9. Saparova, E. I. (1999). Jefferektivnost' ispol'zovanija razlichnyh dozirovok vicasola nikotinomidnoj formy v racione cypljat-brojlerov [The effectiveness of the use of various dosages of vicasol nicotinamide form in the diet of broiler chickens], dis. kand. s.-h. nauk, Kemerovo, 112 p.
10. Skulachev, V.P. (1989). Jenergetika biologicheskikh membran [Energy of biological membranes]. Moskva, Nauka, 564 p.
11. Salmon-Chemin, L., Buisine, E., Yardley, V. et al. (2001). 2- and 3-substituted 1,4-naphthoquinone derivatives as subversive substrates of trypanothionereductase and lipoamide dehydrogenase from Trypanosomacruzi: synthesis and correlation between redox cycling activities and in vitro cytotoxicity. J Med Chem, №44, pp. 548–565.
12. Mailloux, R. J., Singh, R., Brewer, G. et al. (2009). Alpha-ketoglutarate dehydrogenase and glutamate dehydrogenase work in tandem to modulate the antioxidant alpha-ketoglutarate during oxidative stress in *Pseudomonas fluorescens*. J Bacteriol, vol. 191, pp. 3804–3810.
13. Bradford, M. M. (1976). A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. Anal. Biochem, №72, pp. 248–254.
14. Abbasi, T., Shakeri, M., Zaghari, M., Kohram, H. (2017) Growth performance parameters, bone calcification and immune response of in ovo injection of 25-hydroxycholecalciferol and vitamin K3 in male ross 308 broilers. Theriogenology. International journal of animal reproduction, pp. 260–265 – DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.12.016>.
15. Gupta, S. C., Subhash, C.G., Dekker, E. E. (1980). Evidence for the Identity and Some Comparative Properties of a-Ketoglutarate and 2-Keto-4-hydroxyglutarate Dehydrogenase. The J. Biol. Chem, vol. 255, №3, Issue 10, pp. 1107–1112.
16. Jarabak, R., Jarabak, (1995). Effect of ascorbate on the DT-diaphorase-mediated redox cycling of 2-methyl-1,4-naphthoquinone. Arch BiochemBiophys, №318, pp. 418–423.
17. Kolesova, G. M., Vishnivetskiĭ, S. A., Iaguzhinskiĭ, L. S. (1989). A study of the mechanism of cyanide resistant oxidation of succinate from rat liver mitochondria in the presence of menadione. Biokhimiia, №54, pp. 103–111.
18. Mills, G. C. (1957). Hemoglobin catabolism. I. Glutathione peroxidase, an erythrocyte enzyme which protects hemoglobin from oxidative breakdown. J Biol Chem, №229(1), pp. 189–197.
19. Quinlan, C. L., Orr, A. L., Perevoshchikova, I. V. (2012). Mitochondrial complex II can generate reactive oxygen species at high rates in both the forward and reverse reactions. J BiolChem, №287 (32), pp. 27255–27264.
20. Sentman, M., Granström, M., Jakobsonrain, H. (2006). Phenotypes of Mice Lacking Extracellular Superoxide Dismutase and Copper- and Zinc-containing Superoxide Dismutase. J BiolChem, №281, pp. 6904–6909.
21. Brière, J., Schlemmer, D., Chretien, D., Rustin, P. (2004). Quinone analogues regulate mitochondrial substrate competitive oxidation. BiochemBiophys Res Commun, №316, pp. 1138–1142.
22. Yamazaki, S., Kano, K., Ikeda, T. and other. (1999). Role of 2-amino-3-carboxy-1,4-naphthoquinone, a strong growth stimulator for bifidobacteria, as an electron transfer mediator for NAD(P)(+) regeneration in *Bifidobacteriumlongum*. BiochimBiophysActa, №1428, pp. 241–250.
23. Sadek, H. A., Humphries, K. M., Szweda, P. A., Szweda, L. I. (2002). Selective inactivation of redox-sensitive mitochondrial enzymes during cardiac reperfusion. Arch. Biochem. Biophys, vol. 406, pp. 222–228.

24. Tretter, L., Adam-Vizi, V. (2005). Alpha-ketoglutarate dehydrogenase: a target and generator of oxidative stress. *Philosophical Transactions of the Royal Society B.*, vol. 360, pp. 2335–2345.

25. Youn, H., Kang, S. O. (2000). Enhanced sensitivity of *Streptomyces seoulensis* to menadione by superfluous lipamide dehydrogenase. *FEBS Lett.* №472, pp. 57–61.

Влияние викасола на активность ферментов цикла Кребса, антиоксидантной системы и пероксидное окисление в мышцах гусей

Яковейчук А.В., Рубан А.В., Данченко Е.А.

Изучали влияние водорастворимого производного витамина K₃ (викасола) на активность дегидрогеназ цикла Кребса и состояние системы антиоксидантной защиты в мышечной ткани гусей. Установлено, что под влиянием викасола в скелетных мышцах гусей наблюдается умеренная активизация системы антиоксидантной защиты, главным образом, за счет глутатионпероксидазы и, в меньшей степени, супероксиддисмутазы. В то же время, несколько снизилась и стабилизировалась активность дегидрогеназ цикла Кребса (α -OGD и SD). Однако, по показателям роста гусыня опытной группы достоверно превышали соответствующие показатели контрольной. Такой положительный эффект, вероятно, обусловлен спецификой влияния викасола на редокс систему гусей, который заключается в реализации механизмов, направленных на увеличение эффективности ее функционирования путем повышения сбалансированности отдельных ее компонентов, что подтверждается результатами проведенного корреляционного и кластерного анализа.

Ключевые слова: редокс система, викасол, дегидрогеназы, антиоксидантные ферменты, продукты липопероксидации, антиоксидантная активность, баланс.

Influence of vicasol on the activity of Krebs cycle enzymes, antioxidant system and peroxide oxidation in the muscles of geese

Yakoviychuk A., Ruban A., Danchenko E.

Vitamin K is a family of derivatives of 1,4-naphthoquinone, which is usually seen as an antihemorrhagic remedy. However, quinone derivatives have a broad spectrum of biological activity and are used as therapeutic, antiparasitic agents and as growth stimulators of the intestinal microflora. The level of influence of these substances depends on the structure of the side chain, which determines the polarity of derivatives and determines the nature of their relationship with the elements of the respiratory chain and Krebs cycle.

Industrial poultry farming, which uses highly crosses poultry can not be effective without the use of science-based vitamin and mineral admixtures, and vitamin K is their indispensable component. Technology of feeding fodder is important when using these admixtures. If the one uses the prepared feed, typically preferred forms are water-soluble vitamins.

The purpose of work was to determine the influence of a water-soluble derivative vitamin K₃ (vicasol) on dehydrogenase activity in Krebs cycle and the state of antioxidant protection in the muscle tissue of geese.

Geese breed Legarda Large (White) were used as the model. Two groups (control and research), each consisting of 25 heads, were formed in 1-day age. The goslings of research group from the 3d day drank daily hydrophilic aqueous form of vitamin K₃ with a concentration of 10 mg / L in counting 0,7 mg / kg body weight. Biological sampling was performed on the 7-, 14-, 21-, 28- and 35-th days. In the muscle of lower limbs the activity of Krebs cycle dehydrogenase was determined: succinate dehydrogenase (SD), α -ketoglutarate dehydrogenase (2-OGD) and antioxidant enzymes: superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPO) and the content of intermediate (GPL) and final (TBAAP) products of lipid peroxidation.

The average level of α -OGD activity of goslings in the experimental group was 14,3 % lower than in the control one. The use of derivative vitamin K₃ helped to stabilize this indicator: coefficient of variation of α -OGD activity of goslings in the experimental group was 12,0 % lower than in the control one.

The average activity of SD in skeletal muscle of goslings in the experimental group was 11,4% lower than the corresponding figures of the control group, and the coefficient of variation was 6,0 % lower. Thus, under the influence of vicasol in skeletal muscle of goslings the activity of investigated dehydrogenases of Krebs cycle stabilized and decreased to some extent.

The reaction of antioxidant enzymes on the remedy was rather specific. The average level of SOD-activity in muscles of goslings under the influence of vicasol did not remedy significantly. At the same time the stabilizing effect of this indicator was found in the experimental group of goslings: the coefficient of variation of SOD-activity in their muscles became 10,0 % lower. Under the influence of derivative vitamin K₃ dynamic of SOD-activity over time acquired a growing character ($r = 0,917$ ($p \leq 0,05$) in the experimental group, while the control group $r = 0,501$).

For CAT-activity, on the contrary, on the background of close value of variation coefficient in the control and experimental, in the experimental group of goslings a moderate decrease of its average level (7,7 %) was found.

GPO-activity appeared to be the most susceptible to vicasol, the average level of which in the experimental group of goslings rose by 34,1 % and the coefficient of variation decreased by 18 %. The nature of the dynamics of this indicator in the experimental group remained similar to the control one ($r = 0,895$ ($p \leq 0,05$) and $0,900$ ($p \leq 0,05$) with time, respectively).

The application of vicasol favoured the moderate stabilization of intermediate products of lipid peroxidation GPL (coefficient of variation is lower in the experimental group by 8,0 %) and monotonic decrease of their contents throughout the experiment ($r = -0,928$, $p \leq 0,05$), that was not observed in the muscles of goslings of the control group.

Average content of TBA-active products both in the original homogenate and after the induction of lipid peroxidation by ions Fe²⁺, under the influence of vicasol increased by 54,8 % and 41,9 % respectively. Besides, under the influence of derivative vitamin K₃ the content of TBAAP in the muscles of goslings in the experimental group became somewhat stabilized and

had a decreasing over time ($r = -0,816$, $p \leq 0,05$). Overall, if we compare the average coefficient of antioxidant activity of goslings in the control and experimental groups, the figure is 9,4 % higher in the experimental group.

Thus, under the influence of vicasol in the skeletal muscles of goslings a moderate activation of the antioxidant defense system was observed, mainly due to glutathione peroxidase and, in the less degree, to superoxide dismutase. At the same time, the activity of dehydrogenases (α -OGD and SD) decreased to some extent and stabilized.

However, according to the growth indicators, the goslings of the experimental group significantly exceeded the corresponding indicators of the control group. Such a positive effect is probably due to the specific influence of vicasol on the redox geese system, which involves implementing mechanisms aimed at increasing the efficiency of its functioning by increasing the balance of its individual components.

Key words: redox system, vicasol, dehydrogenases, antioxidant enzymes, lipoperoxidation products, antioxidant activity, balance.

Надійшла 14.06.2017 р.